

УДК 597.08.591.1.81

## ДИНАМИКА КЛЕТОЧНОГО СОСТАВА ГИПОФИЗАРНО-ХРОМАФФИНОВОЙ СИСТЕМЫ СЕРЕБРЯНОГО КАРАСЯ (*Carassius auratus gibelio* Bloch 1782) В УСЛОВИЯХ СТРЕССА

<sup>1</sup>Козий М.С. – д. б. н., профессор,

<sup>2</sup>Шерман И.М. – д. с.-х. наук, профессор

<sup>1</sup>ГВУЗ «Черноморский национальный университет имени Петра Могилы»

<sup>2</sup>Государственное высшее учебное заведение

«Херсонский государственный аграрный университет».

Изучено влияние непродолжительного интенсивного теплового стресса на клеточный состав аденогипофиза серебряного карася с применением инновационных гистологических методов. Приведены данные изменений в клеточных генерациях органа-мишени. Проведен сравнительный анализ реакции хромоаффинных клеток мезонефроса в оптимальных условиях и при кратковременной стрессовой нагрузке. Показано развитие адаптации организма к стресс-фактору. Определена возможность использования фактического материала в практике рыбоводных предприятий.

Ключевые слова: серебряный карась, стресс, аденогипофиз, хромоаффинные клетки, орган-мишень.

---

**Постановка проблемы.** В условиях постепенно возрастающих нагрузок на акватории проблема техногенного стрессового состояния гидробионтов животного происхождения очевидна, так как в его основе усматривается патогенетическое начало нарушения гомеостатического статуса организма. Вместе с тем адаптационные потенции Хордовых обладают универсальностью, поскольку их организм являет собой саморегулирующуюся систему [9; 10]. В процессе эволюции у рыб сформировалась довольно сложная система адаптивных механизмов, реализация отдельных составляющих которой устанавливает физиологический статус вида. Определение степени пластичности вида, выяснение особенностей адаптационных уровней позволяет на практике решать определённые вопросы содержания и дальнейшего разведения объектов аквакультуры.

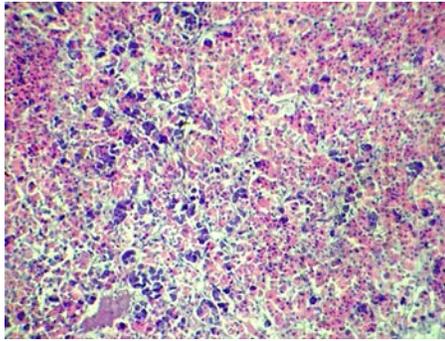
**Анализ последних исследований и публикаций.** Известно, что адаптация представителей Типа Хордовых к стресс-факторам различной этиологии проявляется, прежде всего, в виде неспецифической гормональной реакции передней доли гипофиза. Следует подчеркнуть, что особенности функционирования железы при стрессовых нагрузках и возникающие

при этом адаптивные механизмы включения клеточных генераций в настоящее время на теплокровных изучены достаточно полно [3; 4; 5; 8]. Однако в отношении рыб подобного рода исследования имеют скорее одностороннюю, макроуровневую направленность [7]. Известно, что корковое вещество у представителей Телеостей дислоцировано в передней части лентовидных почек и носит название интерреналовой ткани; мозговое (представляющее наибольший интерес в моделирующих стресс физиологических экспериментах) существует в виде вкраплений специфических хромаффинных клеток в межканальцевой ткани мезонефроса [2]. По всей видимости, разобщение у рыб мозгового и коркового вещества надпочечников явилось причиной сложности детального изучения светооптическими методами центрального эндокринного аппарата и связанных с ним звеньев. Учитывая факт отсутствия в доступной литературе информации о взаимосвязи гипофиза рыб и отдельных составляющих органов-мишеней в условиях стресса на микроуровне, можно указать на оправданность проведения соответствующих исследований в отношении гидробионтов животного происхождения.

**Постановка задания.** Исследования были проведены в течение марта 2018 г. в аквариальных условиях на базе проблемной научно-исследовательской лаборатории оптимизации использования водных биоресурсов рыбохозяйственно-экологического факультета ГВУЗа «Херсонский ГАУ»; в оптимальных и моделируемых условиях стресса (диапазон температур: +30°C; +33°C; +35°C, общее время эксперимента – 0,5 ч., время экспозиции – 10 мин.) было обследовано 20 половозрелых особей серебряного карася. Принадлежность к полу при этом не учитывалась. По методу аналогов были сформированы интактная и опытная группы. Исследования проведены с соблюдением основных биоэтических положений Конвенции Совета Европы о правах человека и биомедицине (от 04.04.1997 г.).

Камеральную обработку гистологических проб осуществляли согласно рекомендациям и при помощи разработанного специального оборудования [7]. Биометрические исследования тканей выполнены согласно общепринятым методикам [6]. Полученный материал обрабатывали методом вариационной статистики с акцентом внимания на ошибки средних величин [1], а также при помощи пакета прикладных программ «Microsoft Excel».

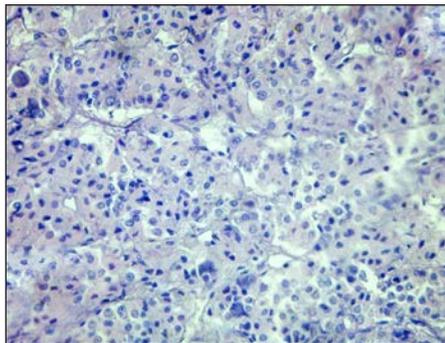
Результаты исследования. Согласно результатам наблюдений, паренхима аденогипофиза у серебряного карася составляет около 53% всей площади придатка. В нашем случае проведение исследования гистологического строения медиальной зоны аденогипофиза оправдано ввиду возможности фиксирования полноты и динамичности реакции клеточного состава в ответ на стрессовый раздражитель. Обзорная микрокартина указанного участка железы представлена на рисунке 1.



*Рис. 1. Медиальная зона аденогипофиза серебряного карася. Интактная группа. Гематоксилин Бёмера, фукселин Харта (в модификации). 80<sup>x</sup>*

Как видно из рисунка 1, строма аденогипофиза образована густой трабекулярной сетью. Местами межтрабекулярные пространства выполнены рыхлой волокнистой соединительной тканью, которая имеет связь с сетью ретикулярных волокон и капиллярами. Сосуды микроокружения синусоидного типа формируют вторичную сеть портальной системы доли.

В норме у исследуемого вида рыб хромофобы (или хромофобные эндокриноциты) составляют большинство клеток аденогипофиза (около 65–67%) (рис. 2).



*Рис. 2. Медиальная зона аденогипофиза серебряного карася. Интактная группа. Хромофобные эндокриноциты. Гематоксилин Бёмера, фукселин Харта (в модификации). 200<sup>x</sup>*

Исходя из содержания рисунка 2, становится очевидным, что данный тип клеток отличается неясно различимыми контурами ввиду своей невыразительной базо- и ацидофильности.

Поэтапное и детальное изучение серий гистопрепаратов аденогипофиза серебряного карася позволяет выделить хромофилы, находящиеся в финальной стадии выведения гранул секрета. Наблюдения показывают,

что у данного вида рыб соотношение всех генераций хромофильных эндокриноцитов на гистосреззах приблизительно одинаково (рис. 3).

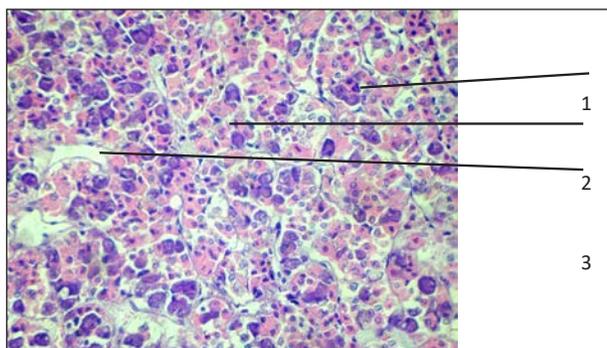


Рис. 3. Медиальная зона аденогипофиза серебряного карася. Интактная группа. Хромофильные эндокриноциты. 1 – ацидофил; 2 – базофил; 3 – капилляр. Гематоксилин Бёмера, фукселлин Харта (в модификации). 200\*

На представленном рисунке несколько труднее диагностируются малодифференцированные камбиальные элементы, а также фолликулярно-звёздчатые клетки. Различается небольшое (до 4% от всего клеточного состава аденогипофиза) количество кортикотропов, диагностирующихся по своей ассиметричной форме и сегментарным ядрам.

В ходе эксперимента было установлено, что стрессовые нагрузки на организм рыб провоцируют изменение баланса клеточных популяций аденогипофиза (рис. 4).

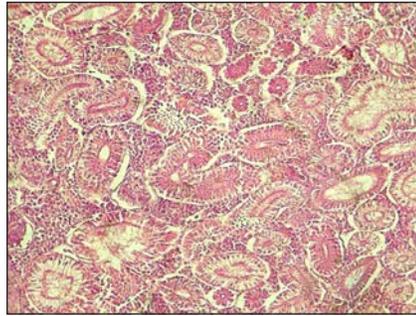


Рис. 4. Изменение баланса клеточных популяций в строме аденогипофиза серебряного карася в стабильных условиях (А) и в условиях кратковременного теплового стресса (Б)

Судя по содержанию рисунка 4, в условиях кратковременных стрессовых нагрузок на организм рыб количество хромофильных эндокриноцитов (в том числе кортикотропов) несколько возрастает.

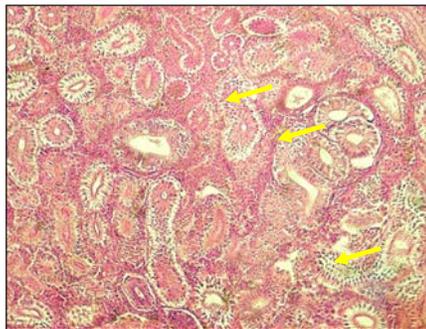
Изменение баланса клеточных популяций, по всей видимости, имеет поэтапный характер. Фиксируется постепенное выполнение полостей трабекул хромофильными эндокриноцитами, что указывает на активизацию транспорта гормонов гипоталамуса к клеткам-мишеням.

Мишенью для гормонов гипоталамуса является межканальцевая ткань мезонефроса, в частности, одиночные хромаффинные клетки или редкие их скопления (рис. 5).



*Рис. 5. Хромаффинные клетки межканальцевой ткани мезонефроса серебряного карася (указаны стрелками). Интактная группа. Гематоксилин Бёмера, фукселин Харта (в модификации). 120<sup>x</sup>*

Как видно из содержания рисунка 5, в состоянии покоя клетки данного типа отличаются нерезко ацидофильной, оптически гомогенной цитоплазмой. В условиях воздействия теплового фактора гистологическая картина межканальцевой ткани несколько меняется (рис. 6).



*Рис. 6. Хромаффинные клетки межканальцевой ткани мезонефроса серебряного карася (указаны стрелками). Опытная группа. Гематоксилин Бёмера, фукселин Харта (в модификации). 120<sup>x</sup>*

Отчётливо фиксируется, что цитоплазма отдельных клеток приобретает ахроматические признаки. Данный факт указывает на присутствие в эндокриноцитах предшественников гормонов.

Установлено, что интенсивность стрессовых нагрузок оказывает влияние на скорость созревания и на количество вырабатываемого инкрета. Как правило, у большинства клеток в этот период светлая, ячеистая цитоплазма. Специфический вид полужидкого содержимого обусловлен наличием в ней крупных липидных включений, преимущественно зрелого адреналина.

Сравнительный анализ микроснимков показывает, что в результате повышения секреторной активности хромаффинных клеток закономерно фиксируется изменение их цитологических характеристик (табл. 1).

Таблица 1. Цитологическая характеристика хромаффиноцитов мезонефроса интактных и опытных рыб.  $M \pm n$ ,  $n = 20$

Вариант	Линейные размеры клеток, мк		Площадь клеток, S, мк <sup>2</sup>			ЯЦО
	АхВ <sub>клетки</sub>	АхВ <sub>ядра</sub>	клетки	ядра	цитоплазмы	
интактная группа						
1	4,4x4,1	1,7x1,8	18,0±6,1	3,1±0,3	14,9±5,2	0,21±0,02
2	4,7x5,2	2,1x2,0	24,4±7,8	4,2±0,4	20,2±8,4	0,21±0,03
3	4,9x5,4	1,9x1,7	26,5±7,9	3,2±0,2	23,3±8,7	0,14±0,01
опытная группа						
1	5,6x6,3	2,0x1,8	35,3±10,2***	3,6±0,7*	32,7±9,5***	0,11±0,04**
2	6,1x5,9	2,2x2,0	36,0±9,8***	4,4±0,6	31,6±8,8***	0,14±0,03**
3	6,5x7,1	2,3x3,2	46,2±12,2***	7,3±1,2***	38,9±11,3***	0,19±0,02

Примечания. \* $P < 0,05$ ; \*\* $P < 0,01$ ; \*\*\* $P < 0,001$

Анализ данных таблицы 1 показывает, что изменения параметров клеток и ядер (на 17,3; 11,6; 19,7 мкм<sup>2</sup> и 0,5; 0,2; 3,1 мкм<sup>2</sup>), а также цитоплазмы (17,8; 11,4 и 15,6 мкм<sup>2</sup> соответственно) закономерно провоцирует сдвиг значений константы Гертвига (ЯЦО), что в ряде случаев статистически достоверно.

Предположительно, провоцируемая деятельностью гипофиза секреторная активность клеток могла бы охватить все участки межканальцевой ткани мезонефроса. Вопреки ожидаемому результату, скопления клеток со зрелыми липидными включениями фиксировались локально, что указывает на развитие адаптации на микроуровне в виде стабилизации гормонального фона.

**Выводы из исследования и перспективы дальнейшего развития в этом направлении.** Кратковременный тепловой стресс различной интенсивности приводит к динамичности клеточных поколений аденогипофиза за счёт активизации транспорта гормонов в гипофизарно-гипоталамическом комплексе к клеткам-мишеням.

Относительно малый объём «функциональных локусов» в межканальцевой ткани мезонефроса отражает оптимальность микрокартины

индивидуальной реакции аденогипофиза и органа-мишени на кратковременное действие раздражителя, что указывает на развившуюся адаптацию организма к стресс-фактору. В перспективе полученные результаты количественных гистологических исследований аденогипофиза и хромоаффинных клеток межканальцевой ткани мезонефроса при стрессе могут быть использованы в практике рыбоводных предприятий с целью управления адаптацией ценных объектов аквакультуры к стрессирующим факторам в искусственных условиях содержания.

## **ДИНАМІКА КЛІТИННОГО СКЛАДУ ГІПОФІЗАРНО-ХРОМАФІНОВОЇ СИСТЕМИ СРІБНОГО КАРАСЯ (*Carassius auratus gibelio* Bloch 1782) В УМОВАХ СТРЕСУ**

<sup>1</sup>*Козій М.С. – д. б. н., професор,*

<sup>2</sup>*Шерман І.М. – д. с.-г. наук, професор*

<sup>1</sup>*ДВНЗ «Чорноморський національний університет імені Петра Могили»,*

<sup>2</sup>*ДВНЗ «Херсонський державний аграрний університет»*

Вивчено вплив нетривалого інтенсивного теплового стресу на клітинний склад аденогіпофіза срібного карася із застосуванням інноваційних гістологічних методів. Наведено дані змін у клітинних генераціях органу-мішені. Проведено порівняльний аналіз реакції хромоафінних клітин мезонефроса в оптимальних умовах і при короткочасному стресовому навантаженні. Показано розвиток адаптації організму до стрес-фактору. Визначена можливість використання фактичного матеріалу в практиці рыбоводних підприємств.

Ключові слова: срібний карась, стрес, аденогіпофіз, хромоафінні клітини, орган-мішень.

## **THE DYNAMICS OF THE CELLULAR COMPOSITION OF THE HYPOPHYSIS-CHROMOPHILIC SYSTEM OF *Carassius auratus* UNDER STRESS CONDITIONS**

<sup>1</sup>*Kozii M.S. – Doctor of Biological Sciences, Professor,*

<sup>2</sup>*Sherman I.M. – Doctor of Agricultural Sciences, Professor*

<sup>1</sup>*Petro Mohyla Black Sea National University*

<sup>2</sup>*Kherson State Agrarian University*

The effect of short intense thermal stress on the cellular composition of adenohypophysis of silver carp with the use of innovative histological methods has been studied.

The data of changes in cellular generations of the target organ are given. A comparative analysis of the reaction of chromonal mesonephroses cells under optimal conditions and in the case of short-term stress loading has been carried out. The development of adaptation of the organism to the stress factor is shown. The possibility of using the actual material in the practice of fish farming enterprises is determined.

Key words: *Carassius auratus*, stress, adenohipophysis, chromophilic cells, target organ.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. Руководство. М.: Медицина, 1990. 384 с.
2. Анисимова И.М., Лавровский В.В. Ихтиология. Из-во Высшая школа. 1983 г. 255 с.
3. Митюшов М.И. Гипофизарно-адреналовая система и мозг. Л.: «Наука», 1976. 208 с.
4. Доровских В.А. Адаптогены и холодовой стресс: вчера, сегодня, завтра...: монографія. Благовещенск, 2006. 214 с.
5. Жаков М.С. Вскрытие животных и патологоанатомические диагнозы болезней: учебное пособие. Минск: Ураджай, 1992. 136 с.
6. Капитонова М.Ю. Иммуногистохимическая характеристика гипофиза в норме и при хроническом стрессе: монографія. 2008. С. 32–37.
7. Козий М.С. Оценка современного состояния гистологической техники и пути усовершенствования изучения ихтиофауны: монографія. Херсон, «Олди-плюс», 2009. 310 с.
8. Мхитаров В.А. Морфофункциональные изменения системы гипофиз-надпочечники-гонады самцов крыс вистар при длительном употреблении этанола в условиях свободного выбора. *Архив патологии*. 2008. Т. 70. № 6. С. 38–41.
9. Фурдуй Ф.И. Системные механизмы развития адаптации и функциональных нарушений при остром действии на организм стресс-факторов. Стресс, адаптация и функциональные нарушения. Кишинев, 1984. С. 294–295.
10. Фурдуй Ф.И. Физиологические механизмы стресса и адаптации при остром действии стресс-факторов. Кишинев: Штиинца, 1986. 239 с.

### REFERENCES

1. Avtandilov G.G. (1990). *Medicinskaja morfometrija: rukovodstvo* (The medical morphometry: the guide). Moscow: Medicina. [in Russian].
2. Anisimova I.M. (1983). *Ihtiologiya* (The ichthyology). Moscow: Vysshaya shkola, 1983. [in Russian].
3. Amitjushov M.I. (1976). *Gipofizarno-adrenalovaja sistema i mozg* (The pituitary-adrenal system and the brain). Leningrad : Nauka. [in Russian].

4. Dorovskih V.A. (2006). *Adaptogeny i holodovoj stress: vchera, segodnja, zavtra* (An adaptogens and the cold stress: yesterday, today, tomorrow). Blagoveshhensk: Dal'GAU. [in Russian].
5. Zhakov M.S. (1998). *Vskrytie zhivotnyh i differencial'naja patomorfologicheskaja diagnostika boleznej* (An animal dissection and the differential pathologic diagnosis of the diseases). Minsk: Uradzhaj. [in Russian].
6. Kapitonova M.J. (2008). Immunogistohimicheskaja harakteristika gipofiza v norme i pri hronicheskom stresse. *Morfologija*. No 6, pp. 32-37. [in Russian].
7. Kozij M.S. (2009). *Ocenka sovremennogo sostoyaniya gistologicheskoy tekhniki i puti usovershenstvovaniya izucheniya ihtiofauny* (An assessment of the current state of the histological techniques and ways to improve the study of the ichthyofauna). Herson, Oldi-plyus. [in Russian].
8. Mhitarov V.A. (2008). Morfofunkcional'nye izmeneniya sistemy gipofiz-nadpochechniki samcov krysa pri dlitel'nom upotreblenii jetanola v uslovijah svobodnogo vybora. *Arhiv patologii*. No 6. pp. 38-41. [in Russian].
9. Furduj F.I. (1984). Sistemnye mekhanizmy razvitiya adaptacii i funkcionalnyh narushenij pri ostrom dejstvii na organizm stress-faktorov. Stress, adaptaciya i funkcionalnye narusheniya (Stress, adaptation and functional impairment). Kishinev, pp. 294-295. [in Russian].
10. Furduj F.I. (1986). *Fiziologicheskie mekhanizmy stressa i adaptacii pri ostrom dejstvii stress-faktorov* (The physiological mechanisms of the stress and adaptation in the acute action of the stress factors). Kishinev. [in Russian].